Münster 1936 No 347 Med DiSS

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westfalen.

Über den Einfluß von Silber-, Kadmium- und Zinnsalzen auf die Eiweißverdauung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät

der

Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Lisa Südhof

aus Nordhorn.

Tag der mündlichen Prüfung: 5. März 1936.

Buchdruckerei Michael Krahl, Erlangen-Bruck

1936

Dekan: Professor Dr. K. W. Jötten.

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. et phil. W. Haarmann.

1936.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.).

Meinen lieben Eltern!

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, in welcher Weise Silber-, Kadmium- und Zinnsalze den Abbau von Eiweißstoffen beeinflussen. Bislang hat man sich nur selten mit der Einwirkung von Metallsalzen auf die Eiweißverdauung befaßt, und so sind Angaben hierüber im Schrifttum nicht zu finden. Ueber die Wirkung dieser betreffenden Metalle auf Fermente ist lediglich der Einfluß des Silbers auf Invertin von v. Euler und seinen Schülern Swanberg[1]), Myrbäck[2]) und Walles[3]) untersucht worden. Nach ihnen soll die Wirkung des Fermentes im gleichen Verhältnis zur Silberkonzentration herabgesetzt werden. Demnach führen hohe Konzentrationen zu einer stärkeren Hemmung als geringe Konzentrationen. Zur völligen Vernichtung des Fermentes kommt es selbst bei einer starken Silberkonzentration nicht, sondern es bleibt stets ein Rest von ungefähr 10% erhalten.

Auch ältere Versuche wie z. B. von Rebiére[4]) zeigen ebenfalls, daß bei steigender Konzentration des Silbers eine Abschwächung der Enzymwirkung stattfindet. Wie ist nun die Wirkung von Silber, Kadmium und Zinn auf die Fermente Pepsin und Pankreatin? Es interessiert uns hier vor allem die Frage, in welcher Weise ihre Metallsalze bei innerlicher Darreichung die normale Eiweißverdauung verändern. Die Verdünnungen der aufgenommenen Metallsalze sind im Magen und Darm so stark,

---

1) v. Euler u. Swanberg: Fermentforschg. 3, 331; 4, 142 (1920).

2) v. Euler u. Myrbäck: Hoppe-Seylers Z. 121, 177, 1922 und Zeitschrift f. exp. Med. 33, 483, 1923.

3) v. Euler u. Walles: Hoppe-Seylers Z. 132, 167, 1924.

4) Rebière: C. r. Soc. Biol. Paris 65, 54, 1908 zit. n. Heffter: Handb. d. exp. Pharmakol. Bd. III, 3 1997 (1934), Berlin, Springer.

daß man bei der Untersuchung der Salze in hohen Konzentrationen keine Rückschlüsse auf den wirklichen biologischen Verlauf ziehen darf. Es ist deshalb notwendig, die hemmende bezw. fördernde Wirkung in relativ starken Verdünnungen zu prüfen. Die angewandten Konzentrationen der Salze in den Versuchen sind aus den Tabellen zu ersehen. Sie beziehen sich nicht auf das Metallsalz, sondern auf das Kation. Der Einfluß folgender Salze wurde untersucht:

1. $Ag\ NO_3$ 0,79 g auf 100 ccm H_2O
2. $Cd\ SO_4 + 8$ Aqu. 1,14 g auf 100 ccm H_2O
3. $Sn\ Cl_2 + 2$ Aqu. 0,95 g auf 100 ccm H_2O

Aus diesen Stammlösungen werden die entsprechenden Verdünnungen hergestellt.

Methodik.

Die Eiweißspaltprodukte, die bei der Pepsin- und Pankreatinverdauung auftreten, wurden jodometrisch bestimmt. Dieses Verfahren ist zuerst von Kober[1]) angegeben worden. Es beruht darauf, daß die Eiweißabbauprodukte wie Peptone, Peptide, Aminosäuren in schwach alkalischer Lösung mit Kupfersalzen komplexe Kupferverbindungen bilden, die jodometrisch bestimmt werden können. Diese Methode wurde später von Utkin[2]) modifiziert. Für unsere Versuche ist folgende noch vereinfachtere Bestimmungsmethode[3]) mit den erforderlichen Lösungen benutzt worden:

1. eine 10%ige Kupfersulfatlösung.
2. eine Suspension von 100 g Magnesiumoxyd auf 3 l Wasser bei Untersuchungen der Pankreatinverdauung.
3. eine Suspension von 200 g Magnesiumoxyd auf 3 l Wasser bei Untersuchungen der Pepsinverdauung.
4. Kaseinlösung. 60 g Kasein werden nach Hammarsten (Merck) mit 950 ccm Aqu. dest. vermischt und dann 50 ccm n-Natronlauge hinzugegeben. Darauf wird

1) Kober: zit. n. Utkin: Biochem. Z. 267, 69, 1933.
2) Utkin: Biochem. Z. 267, 69, 1933.
3) Wäsche: Inaugural-Dissertation, Münster 1935.

das ganze in einem schwach siedenden Wasserbad unter Umrühren bis zur Auflösung des Kaseins erhitzt. Zum Schluß fügt man 1 g Thymol zu der heißen Lösung und läßt erkalten.

5. Gelatinelösung: 50 g Gelatine werden in einem Liter Wasser von 40° C gelöst.
6. Eiereiweißlösung: 50 g Eiereiweiß (Album. ovi sicc. (Merck) werden bei 40° C in 1 l Wasser gelöst.
7. Peptonlösung: 50 g Pepton auf 1 l Wasser und 1 g Thymol.
8. Zur Gewinnung einer 3%igen sauren Lösung von Kasein bezw. Eiereiweiß werden gleiche Teile der Eiereiweiß- bezw. Kaseinlösung langsam mit der gleichen Menge einer 0,25 n Salzsäurelösung unter Umrühren versetzt.
9. Boratpufferlösung von $P_H = 8{,}2$ für Untersuchungen der Pankreatinverdauung 8,68 g Borsäure und 24,8 g Borax auf 2 l Wasser.
10. Eisessig.
11. Kalium-jodidlösung: 400 g Kalium jodatum auf 1000 ccm Wasser.
12. n/100 Natriumthiosulfat.
13. Stärkelösung. 1 g lösliche Stärke auf 100 ccm Wasser.

Die Versuchsansätze.

a) Bei der Pepsinverdauung:

10 ccm Salzsaures Kasein- bzw. Pepton- bzw. Eiereiweißlösung.
5 ccm Zusätze: bei Kontrollversuchen Aqu. dest., bei Hauptversuchen Silber, Kadmium und Zinn.
10 ccm einer 1%igen Pepsinlösung (Pepsin absol. Merck).

b) Bei der Pankreatinverdauung:

5 ccm einer 6%igen Kasein — bzw. Pepton — bzw. Gelatinelösung.
10 ccm Boratpuffer.

5 ccm Zusätze.

5 ccm einer 2 %igen Pankreatinlösung (Pankreatin absol. Merck).

Die Fermentlösungen werden vor jedem Versuch neu angesetzt und filtriert.

Die Konzentration des Pepsins bzw. des Pankreatins beträgt 0,2 %, der Kaseinlösung 1,2 % und der Gelatine-, Pepton- bezw. Eiereiweißlösung 1 %. Die Salzsäurekonzentration in den Pepsinversuchen beträgt 0,05 n.

6 Stunden lang blieben die Versuche bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Dann wurde durch Zusatz von 25,0 ccm einer 10 %igen Kupfersulfatlösung und von 50 ccm einer Magnesiumoxydsuspension die Verdauung unterbrochen. Es bildet sich durch Umsetzung von Kupfersulfat mit Magnesiumhydroxyd Kupferhydroxyd, das zugleich alles nicht verdaute Eiweiß fällt. Nach $^1/_2$ stündigem Stehen wird die Flüssigkeit filtriert. Das Filtrat ist klar, aber je nach Anwesenheit von Aminosäuren, niederen und höheren Peptiden tief blau bis violett gefärbt. Von diesem Filtrat nun werden zu der Bestimmung des in Lösung gegangenen Kupfers 50 ccm mit 3 ccm Eisessig angesäuert, wodurch die blaue Kupferfärbung verschwindet. Dann fügt man 6 ccm Kaliumjodidlösung hinzu. Die Lösung färbt sich durch das freiwerdende Jod nach folgendem Umsatz braun: $Cu^{\cdot\cdot} + 2\,J^{\cdot} = Cu\,J + {}^1/_2\,J_2$.

Ein Atom Kupfer spaltet 1 Atom Jod ab. Nach Zusatz von 1 ccm Stärke wird mit n/100 Natriumthiosulfat solange titriert bis die blaue Jodfarbe zum Schwinden gebracht ist. Direkte Versuche, d. h. solche, die ohne längere Zeit zu stehen, also sofort unterbrochen wurden, zeigen keinen Jodverbrauch.

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 1—6 zusammengestellt. Die Konzentration der untersuchten Stoffe ist in den Tabellen angegeben. Sie bezieht sich auf das Kation und nicht auf das Metallsalz.

Versuchsserie I. (Tabellen 1—3).

Tabelle 1.

Pepsin und Eiereiweiß.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Ag	Cd	Sn	Ag	Cd	Sn
Kontrolle	3,4	3,4	3,4	100	100	100
$1 . 10^{-8}$	3,4	3,4	3,4	100	100	100
$1 . 10^{-7}$	3,4	3,4	3,3	100	100	97
$1 . 10^{-6}$	3,3	3,3	3,2	97	97	94
$1 . 10^{-5}$	3,2	3,1	3,1	94	91	91
$1 . 10^{-4}$	3,0	2,9	2,6	88	85	76
$1 . 10^{-3}$	2,8	2,6	1,7	82	76	50

Tabelle 2.

Pepsin und Kasein.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Ag	Cd	Sn	Ag	Cd	Sn
Kontrolle	3,9	3,9	3,9	100	100	100
$1 . 10^{-8}$	3,8	3,8	3,8	97	97	97
$1 . 10^{-7}$	3,8	3,8	3,7	97	97	95
$1 . 10^{-6}$	3,7	3,7	3,6	95	95	92
$1 . 10^{-5}$	3,6	3,6	3,5	92	92	90
$1 . 10^{-4}$	3,5	3,4	3,3	90	87	85
$1 . 10^{-3}$	3,4	3,2	2,8	87	82	72

Tabelle 3.

Pepsin und Pepton.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Ag	Cd	Sn	Ag	Cd	Sn
Direkt. Vers.	6,9	6,9	6,9	—	—	—
Kontrolle	8,7	8,7	8,7	100	100	100
$1 . 10^{-8}$	8,7	8,7	8,7	100	100	100
$1 . 10^{-7}$	8,7	8,7	8,7	100	100	100
$1 . 10^{-6}$	8,7	8,7	8,6	100	100	94
$1 . 10^{-5}$	8,6	8,6	8,6	94	94	94
$1 . 10^{-4}$	8,5	8,5	8,5	89	89	89
$1 . 10^{-3}$	8,3	8,4	8,4	78	83	83

In der ersten Versuchsreihe wurde die Einwirkung von Silber, Zinn und Kadmium auf Kasein, Eiereiweiß und Pepton durch Pepsin untersucht. Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß die Salze der drei Metalle mit ansteigender Konzentration die Pepsinverdauung verschlechtern. Zinn ist bei der Kasein- und Eiereiweißverdauung am stärksten wirksam. Dagegen hemmen Silber und Kadmium wesentlich schwächer. Der verzögernde Einfluß macht sich schon in der Konzentration $1 . 10^{-7}$ bemerkbar und nimmt langsam zu. Bei der Eiereiweißverdauung steigt beim Zinn die Hemmungswirkung in der Konzentration $1 . 10^{-3}$ dermassen in die Höhe, daß der Abbau des Eiereiweißes um 50% gehemmt ist, während Silber und Kadmium die Verdauung nur bis zu 24 bezw. 18% herabsetzen. Die Hemmung des Zinns auf die Kaseinverdauung ist wesentlich schwächer als bei dem Eierweißabbau. Sie beträgt in der höchsten Konzentration $1 . 10^{-3}$ 28%. Die Hemmung durch Kadmium und Silber macht in der gleichen Verdünnung nur 13—18% aus.

Anders liegen die Verhältnisse bei der Pepsinverdauung. In stärkeren Verdünnungen ist kein hemmender

Einfluß der Metallsalze nachweisbar. Erst in den Konzentrationen $1 . 10^{-3}$ macht sich eine Störung in der Verdauung geltend. Hier ist es das Silber, das in der höchsten Konzentration $1 . 10^{-3}$ den Peptonabbau um 22% verzögert. Kadmium und Zinn hemmen die Pepsinverdauung schwächer und in den gleichen Konzentrationen um den gleichen Betrag um 77%. Die Hemmung ist also als verhältnismäßig gering zu verzeichnen. Zu einer Steigerung der Pepsinverdauung kommt es bei allen Versuchen auf keinen Fall. Dagegen ist der hemmende Einfluß der Metallsalze mit Ausnahme des Peptons noch in starken Verdünnungen nachweisbar und ist erst bei einer Konzentration $1 . 10^{-8}$ gerade verloren gegangen.

Versuchsserie II. (Tabellen 3—6).

Tabelle 4.

Pankreatin und Gelatine.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Ag	Cd	Sn	Ag	Cd	Sn
Kontrolle	6,0	6,0	6,0	100	100	100
$1 . 10^{-8}$	6,0	6,0	6,0	100	100	100
$1 . 10^{-7}$	5,9	6,0	5,9	98	100	98
$1 . 10^{-6}$	5,8	5,9	5,8	97	98	97
$1 . 10^{-5}$	5,6	5,7	5,7	93	95	95
$1 . 10^{-4}$	5,3	5,3	5,5	88	88	92
$1 . 10^{-3}$	0,9	4,8	5,2	15	80	87

Tabelle 5.

Pankreatin und Kasein.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Ag	Cd	Sn	Ag	Cd	Sn
Kontrolle	13,5	13,5	13,5	100	100	100
$1 . 10^{-8}$	13,5	13,5	13,5	100	100	100
$1 . 10^{-7}$	13,4	13,5	13,5	99	100	100
$1 . 10^{-6}$	13,3	13,4	13,5	99	99	100
$1 . 10^{-5}$	13,2	13,3	13,4	98	99	99
$1 . 10^{-4}$	12,0	12,5	13,2	89	93	98
$1 . 10^{-3}$	1,1	9,6	12,9	8	71	96

Tabelle 6.

Pankreatin und Pepton.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Ag	Cd	Sn	Ag	Cd	Sn
Direkt. Vers.	8,8	8,8	8,8	—	—	—
Kontrolle	14,6	14,6	14,6	100	100	100
$1 . 10^{-8}$	14,6	14,6	14,6	100	100	100
$1 . 10^{-7}$	14,5	14,5	14,6	98	98	100
$1 . 10^{-6}$	14,3	14,4	14,6	95	97	100
$1 . 10^{-5}$	14,1	14,2	14,5	91	93	98
$1 . 10^{-4}$	13,8	14,0	14,3	86	90	95
$1 . 10^{-3}$	11,4	12,6	14,0	45	66	90

Im folgenden soll die Wirkung der Silber-, Kadmium- und Zinnsalze auf die Trypsinverdauung (untersucht mit Pankreatin) geprüft werden. Als Substrat werden Kasein, Gelatine und Pepton benutzt. Die Verdauung mit Eiereiweiß wurde nicht untersucht, weil es vom Pankreatin nur sehr schwer angegriffen wird. Der Kaseinabbau durch Pankreatin wird durch Silber erheblich mehr in Mitleidenschaft gezogen als bei der Pepsinverdauung. Nach anfänglich geringer Hemmung ist die Verdauung beim Silber in der Konzentration $1 . 10^{-3}$ sehr schwer gestört und um 92% herabgesetzt. Demgegenüber übt das Zinn selbst in den höchsten Konzentrationen kaum einen Einfluß aus, ebenso das Kadmium. Auch bei der Gelatinverdauung ist vor allem beim Silber in der Konzentration $1 . 10^{-3}$ eine starke Hemmung von 85% festzustellen. Der Einfluß des Silbers auf die Peptonspaltung ist in der Konzentration $1 . 10^{-3}$ 55%. Die auftretenden Hemmungen durch Kadmium- und Zinnsalze sind geringer. Immerhin übt Kadmium noch eine Verdauungsverzögerung von 45% aus. Bei allen Metallsalzen macht sich noch bei einer Konzentration 10^{-7} ein hemmender Einfluß auf die Trypsinverdauung bemerkbar. Die Versuche zeigen, daß das Silber in größeren Konzentrationen sehr schädigend auf die Eiweißverdauung wirkt und sie bis über 90% herabsetzt, weil sich sofort das Eiweiß in käsigen Flocken niederschlägt. Bei der Pepsinverdauung dagegen wird das Silber durch die Pepsin-Salzsäure als Chlorsilber niedergeschlagen und beeinträchtigt daher weniger die Verdauung. Auch beim Kadmium ist die Giftwirkung in der Konzentration $1 . 10^{-3}$ eine beträchtliche und stört den Eiweisabbau bis zu 44%. Wie bei der Pepsinverdauung so ist auch hier bei ansteigender Konzentration eine zunehmende Hemmung der Trypsinverdauung durch die Metallsalze festzustellen.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß von Silber-, Kadmium- und Zinnsalzen in Form von $AgNO_3$, $CdSO_4$, $SnCl_2$ auf die Pepsinverdauung von Kasein, Pepton und Eiereiweiß sowie die Trypsinverdauung von Kasein, Pepton und Gelatine untersucht. Mit steigender Konzentration der Metallsalze verschlechtert sich die Eiweißverdauung. Die Wirkung ist noch in sehr starken Verdünnungen, oft sogar noch bei einer Konzentration von $1 . 10^{-8}$ nachweisbar. Bei der Pankreatinverdauung ist die Giftwirkung des Silbers am größten und hemmt ($1 . 10^{-3}$) um rund 90% den Eiweißabbau. Zinn übt bei der Pepsinverdauung den größten Einfluß auf den Abbau von Kasein und Eiereiweiß aus, während Silber die Peptonspaltung erheblich hemmt. Bei allen Versuchen fand eine Steigerung des Eiweißabbaues durch niedrige Konzentrationen der Metallsalze nicht statt.

Lebenslauf.

Ich, Lisa Südhof, bin am 15. Juni 1912 in Linne als Tochter des Rektors Heinrich Südhof und seiner Frau Elisabeth geborene von der Brelie geboren. Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich die Städtische Mittelschule zu Nordhorn und später die dortige Oberrealschule i. A. Ostern 1932 erhielt ich das Zeugnis der Reife. Ich studierte anschließend Zahnheilkunde in Münster und Kiel und bestand im Dezember 1935 das Staatsexamen in Münster.

Lisa Südhof.